



## Kolorektální karcinom – detekce mutací v RAS (KRAS a NRAS) genech

Kolorektální karcinom neboli rakovina tlustého střeva a konečníku patří celosvětově k nejrozšířenějším nádorovým onemocněním. V České republice patří kolorektální karcinom k nejčastějším nádorovým onemocněním, jehož incidence trvale roste a podle některých statistik jsme v celosvětovém měřítku ve výskytu této choroby u mužů na prvním místě. Onemocnění se nejčastěji vyskytuje u lidí nad 50 let (nejvyšší výskyt nových případů je mezi 60. a 70. rokem života). Až u jedné čtvrtiny nemocných jsou v okamžiku stanovení diagnózy přítomny metastázy (tj. šíření nádorů do dalších orgánů, nejčastěji jater a plic) a pětileté přežití těchto pacientů je nižší než 5 %. Mezi typické příznaky tohoto onemocnění patří zejména přítomnost krve ve stolici, pocit stálého nucení na stolicí po vyprázdnění, bolest břicha, pocit „špatného zažívání“, střídání zácpy a průjmu, nevysvětlitelný úbytek hmotnosti, stálý pocit únavy. Léčba nádorových onemocnění je náročná a volba léčebné strategie závisí na velikosti nádoru, jeho lokalizaci a pokročilosti onemocnění. V protinádorové léčbě se uplatňují čtyři základní léčebné postupy a to chirurgický (operační odstranění celého nádoru), chemoterapie (podávání látek, které zabírají množení buněk), radioterapie (ozáření nádoru) a biologická léčba. Principem účinku cílené biologické léčby onkologických onemocnění je zamezení růstu nádorových buněk tím, že lék zablokuje určité molekuly (receptory), které „spouštějí“ dělení a růst nádorových buněk, přičemž neovlivňuje buňky zdravé. V současnosti jsou pro léčbu kolorektálního karcinomu dostupné monoklonální protilátky namířené proti receptorům pro epidermální růstový faktor (tzv. anti-EGFR moAb) – cetuximab, resp. panitumumab. Avšak aby i tato léčebná strategie mohla být účinná, je nutné znát stav některých dalších faktorů, které mohou ovlivnit výsledek léčby. Ty pak slouží jako markery, pomocí nichž lze předvídat, zda bude tato léčba úspěšná, či nikoli. Takovýmto biomarkerem, který umožní predikci účinnosti anti-EGFR moAb u pacientů s kolorektálním karcinomem je přítomnost nemutovaných RAS genů.

Signální dráha od EGFR receptoru – signál je veden po aktivaci receptoru k proteinu RAS (z angl. rat sarcoma viral oncogene homolog), který je schopen aktivovat několik signálních kaskád. Existují tři typy proteinu RAS – NRAS (z angl. neuroblastoma v-ras oncogene homolog), HRAS (z angl. V-Ha-ras Harvey rat sarcoma viral oncogene homolog) a KRAS (z angl. Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog). Aktivační mutace v tomto genu mají za následek konstitutivní stimulaci dané signální dráhy nezávisle na stavu EGFR.

Přibližně 35-45% pacientů s kolorektálním karcinomem je nositelem mutací v exonu 2 KRAS genu. Bylo identifikováno přes 3000 bodových mutací genu KRAS, většinou se objevují v kodonu 12 nebo 13 (~82 % v kodonu 12 a ~17 % v kodonu 13); mutace genu KRAS v jiných kodonech – exon 3 (kodony 59) a exon 4 (kodony 117 a 146) KRAS genu jsou méně časté. Uvádí se, že přibližně 10% pacientů, kteří nemají mutaci v exonu 2 KRAS genu, mohou nést mutaci v exonu 3 nebo 4 KRAS genu, nebo exonu 2 (kodony 12 a 13), exonu 3 (kodony 59 a 61) a exonu 4 (kodony 117 a 146) NRAS genu. Mutace v KRAS, NRAS genech jsou spojovány s neúčinností léčby pomocí monoklonálních protilátek proti EGFR (rezistencí na anti-EGFR terapii).



Dle dosavadních poznatků tedy určení mutačního statutu RAS genů (KRAS a NRAS) poskytuje důležitou informaci při rozhodování o volbě léčebné strategie u pacientů s pokročilým stádiem kolorektálního karcinomu. Účelem vyšetření je stanovení přítomnosti somatických mutací v exonu 2 (kodony 12 a 13), exonu 3 (kodony 59 a 61) a exonu 4 (kodony 117 a 146) KRAS a NRAS genu. Neboť pouze pacienti, v jejichž nádoru nebyla prokázána přítomnost mutací v RAS genech (tedy mající nemutované geny KRAS a NRAS, tj. wild-type) jsou vhodní pro cílenou léčbu kolorektálního karcinomu monoklonálními protilátkami proti EGFR receptoru a lze u nich očekávat pozitivní terapeutickou odpověď.

## Indikace vyšetření:

Pacienti s metastazujícím kolorektálním karcinomem (mCRC), u nichž se zvažuje terapie pomocí monoklonálních protilátek proti EGFR receptoru.

## Materiál pro vyšetření:

- nativní, zamražená, případně fixovaná nádorová tkáň o velikosti min. 3x3x3mm, uložená do sterilní nádoby (mikrozkumavky), transport do laboratoře v den odběru (případně do 24 hod.)
- parafínový bloček s největším zastoupením nádorové tkáně a s přesným označením lokalizace nádoru v daném bločku
- vyizolovaná DNA rozpuštěná ve vodě nebo TE pufu, řádně označená 2 identifikačními symboly – jménem a rodným číslem pacienta
- příložená žádanka specifikující druh požadovaného vyšetření a obsahující nezbytné údaje o pacientovi

## Vyšetřované mutace v RAS genech:

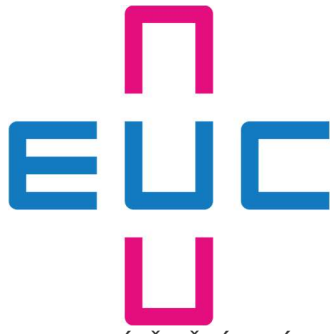
Somatické mutace v exonu 2 (kodony 12 a 13), exonu 3 (kodony 59 a 61) a exonu 4 (kodony 117 a 146) KRAS a NRAS genu se provádí pomocí metod: real-time PCR, PCR a následné metody extenze primerů (tzv. SNaPshot assay), PCR a následné reverzní hybridizace a případně pomocí přímého sekvenování.

## Transport vzorků do laboratoře

Zajištěn svozem CGB laboratoře a.s. [Více info zde...](#)

## Délka trvání vyšetření a způsob vydání závěrečné zprávy:

- požadované vyšetření a vydání závěrečné zprávy je realizováno do 7-15 pracovních dnů od příjmu vzorku laboratoří
- v případě vzorku s označením STATIM je vyšetření a vydání závěrečné zprávy provedeno do 2-3 pracovních dnů po převzetí vzorku



- závěrečné zprávy o výsledku jsou z laboratoře zasílány písemně pouze zadavateli vyšetření – lékaři, oprávněnému indikovat vyšetření